©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Über die pflanzliche Kutikulartranspiration und ihre Beziehungen zur Membranquellbarkeit

Von Otto Härtel

Mit 7 Textabbildungen

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. März 1947)

Untersuchungen der letzten Jahre (O. Härtel 1943, H. Härtel 1945) haben gezeigt, daß die Reaktion der Pflanzen bei einem Wechsel der Standorts- bzw. Aufzuchtsbedingungen nicht nur auf die plasmatische Komponente (osmotischer Wert, Permeabilität usw.) beschränkt bleibt, sondern auch zu mehr oder weniger weitgehenden Veränderungen im kolloidchemischen Verhalten der Gerüstsubstanzen führt. Als Indikator hiefür diente die Quellbarkeit, definiert durch die Gewichtszunahme exsikkatortrockenen Pflanzenmaterials in einer Atmosphäre bestimmter (meist 95%iger) relativer Feuchtigkeit innerhalb bestimmter Zeit (in der Regel 2 Tage). Kritische Nachprüfungen haben ergeben, daß die dabei beobachteten differenten Gewichtszunahmen weder durch das wechselnde Verhältnis von verholztem zu unverholztem Anteil noch durch das Vorhandensein anderer Einlagerungen entscheidend beeinflußt werden; auch der Anteil des Plasmas darf ohne weiteres vernachlässigt werden. Die Unterschiede in der Quellbarkeit des trockenen Pflanzenmaterials sind demnach in physikalisch-chemischen Zustandsänderungen der Membranen zu suchen. Im allgemeinen zeigte sich, daß die Quellbarkeit von Pflanzenmaterial aus optimalen Umweltsbedingungen die höchsten Werte erreicht und bei Verschlechterung der Kulturbedingungen bzw. bei Annäherung an die natürliche Verbreitungsgrenze der betreffenden Art (z. B. obere und untere Höhengrenze) abnimmt. In Verfolgung der Ursachen dieser Quellungsänderungen konnten qualitativ und quantitativ entsprechende Effekte auch an bereits trockenem pulverisiertem Material durch Salzzusätze erzielt werden; das Salz- bzw. Ionenmilieu kann also als eine der Ursachen für die beobachteten Quellungsänderungen angesprochen werden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Für eine genauere Analyse ihrer Ursachen und der physiologischen Bedeutung muß jedoch versucht werden, den nur schwer überschau- und kontrollierbaren Komplex der natürlichen Standortsfaktoren durch einfachere, klarere Verhältnisse zu ersetzen. Es entsteht dabei die Frage, welche Einflüsse analoge Quellbarkeitsänderungen in vivo herbeizuführen imstande sind und welche physiologische Prozesse hiedurch beeinflußt werden können. Wohl konnte z. B. an Gebirgspflanzen (O. Härtel 1943) und an Kulturpflanzen (H. Härtel) eine Änderung der Quellbarkeit des Pflanzenpulvers mit der Lichtmenge und -qualität gefunden werden, doch war der Reaktionssinn keineswegs einheitlich. Licht, insbesonders kurzwelliges, vermag zwar Zustandsänderungen bzw. Entquellungsvorgänge innerhalb der Kolloide herbeizuführen (Calábek, Pyrkosch); auf Grund der oben angedeuteten Beobachtungen scheint aber auch eine indirekte Wirkung des Lichtes über den Umweg einer verschiedenen Salzaufnahme (vgl. z. B. Böttcher und Behling) im Bereich der Möglichkeit zu liegen. Für eine erste Untersuchung in dieser Hinsicht erscheint demnach die Frage nach dem Salzeinfluß auf die Quellbarkeit pflanzlicher Membranen am aussichtsreichsten, zumal wir uns dabei auf physikochemisch relativ gesichertem Boden bewegen.

Von den physiologischen Prozessen, die durch die Membranquellbarkeit beeinflußt werden können, wird jedenfalls die Transpiration an erster Stelle zu nennen sein. Nachdem durch Strugger die extrafaszikuläre Wasserleitung in Parenchymen sichergestellt wurde, ist anzunehmen, daß der Quellungsgrad bzw. die Quellungsfähigkeit der Membranen nicht ohne Rückwirkung auf die in denselben vor sich gehende Wasserbewegung sein wird; auch der Übertritt des Wassers vom Blatt in die Luft, sei es durch die Kutikula, sei es aber auch an den inneren Oberflächen des Schwammparenchyms selbst, könnte auf gleiche Weise mehr oder weniger modifiziert werden. Im Zuge der eingangs zitierten Untersuchungen konnten auch bereits Zusammenhänge zwischen der Quellbarkeit und der Transpiration, vor allem ihrer kutikulären Komponente, aufgefunden werden; auch sie wirkten sich jedoch, offenbar je nach der herrschenden Faktorenkonstellation, nach verschiedener Richtung aus bzw. erwiesen sich offenbar durch sekundäre Vorgänge verschiedentlich modifiziert. Jedenfalls erscheinen auch in dieser Richtung weitere Untersuchungen aufschlußreich.

Aus Gesagtem ergibt sich bereits die Problemstellung für vorliegende Untersuchung: es soll geprüft werden, welchen Einfluß die Zufuhr von Ionen, und zwar zwecks Vermeidung unnötiger

Komplikationen zunächst lediglich von $H^{\cdot}$- bzw. OH'-Ionen, in vivo auf die Transpiration (insbesondere der kutikularen) und im Zusammenhang damit auf die Quellfähigkeit des trockenen Pflanzenmaterials, also im wesentlichen der Gerüstsubstanzen, ausübt.

Material und Vorversuche.

Als geeignetsten Weg der Zufuhr der H-Ionen erschien das Aufsaugenlassen von Pufferlösungen durch abgeschnittene Blätter mittels des Transpirationsstroms. Auf diese Weise konnte bei entsprechend lebhafter Anfangstranspiration die Versuchszeit derart abgekürzt werden, daß störende Nebenwirkungen, wie sie z. B. bei der Aufzucht der Pflanzen in Nährlösungen von abgestuftem p_H unvermeidlich sind, nach Möglichkeit hintangehalten werden. In erster Linie wurden Holzgewächse als Versuchsobjekte herangezogen, da beim Einstellen verholzter Sprosse in Lösungen auch von unphysiologischem p_H eine Schädigung der eintauchenden Gewebe und damit Störungen des Wasserzustromes weit weniger zu befürchten sind. Vergleichsweise untersuchte krautige Pflanzen zeitigten jedoch im wesentlichen die gleichen Ergebnisse.

Als Versuchsobjekte dienten zunächst in der Hauptsache die gleichen Pflanzen, an denen bereits ein deutlicher Jahresgang der Quellbarkeit mit der Entwicklung der Blätter (Höchstwert nach Laubausbruch, Abnahme während des Sommers, im Herbst bei Vergilben ein neuerliches kurzes Maximum vor der endgültigen Quellungsabnahme mit dem Vertrocknen) festgestellt werden konnte (H. Härtel): *Tilia platyphyllos, Acer pseudoplatanus, Ampelopsis Veitchii, Carpinus betulus,* dazu kam weiterhin *Liquidambar styraciflua* und *Phaseolus vulgaris* (alle aus dem Botanischen Garten Graz). Als Vertreter möglichst differenter ökologischer Typen wurde *Rhododendron ferrugineum* (von der Koralpe) und *Loiseleuria procumbens* (vom Stuhleck) einerseits, *Impatiens parviflora*, *Lamium maculatum* und *Corydalis cava* anderseits herangezogen.

An die zu verwendenden Puffer mußten zwei Anforderungen gestellt werden: sie durften keine schädlichen und unphysiologischen Ionen enthalten, mußten also möglichst indifferent sein, und sollten ferner trotz möglichst weiter p_H-Spanne möglichst konform zusammengesetzt sein, um sekundäre Ionenwirkungen tunlichst auszuschalten. Diesen Anforderungen genügen die von Strugger, 1938, angegebenen und auch von uns bereits mehrfach erprobten Phosphatpuffer weitgehend. Sie wurden nur insofern geändert, als sowohl primäres als auch sekundäres und tertiäres Phosphat als K-Salz geboten wurde; die durch das geänderte Dissoziationsgleichgewicht bedingte geringfügige Verschiebung der p_H-Werte war unerheblich und bedeutete gegenüber der damit erzielten Ionenkonstanz keinen Nach-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

teil. Bei einer p_H-Spanne von über 7 Zehnerpotenzen variiert das K-Ion lediglich im Verhältnis 1 : 1,6, was in den Auswirkungen gegenüber den H-Ionen vernachlässigt werden konnte[1]. Daß die Lebensprozesse trotz der Pufferwirkung ungestört weiterlaufen, konnte u. a. Hertel nachweisen. Die Puffer wurden in einer Konzentration von n/50 bis n/100 in Reagensgläser gefüllt, die meist vom gleichen Hauptast entnommenen, möglichst gleichartigen Sprosse nach neuerlichem Zurückschneiden hineingesteckt und das Ganze fortlaufend gewogen. Aus den Gewichtsdifferenzen errechneten sich auf Grund der am Versuchsende bestimmten Blattoberfläche bzw. dem Frischgewicht die Transpirationswerte. Eine Überschichtung der Puffer mit Paraffinöl erwies sich infolge der Geringfügigkeit des möglichen Fehlers als überflüssig.

Von den verschiedenen Methoden der Trennung von Stomatär- und Kutikulartranspiration verbietet sich die von Pisek und Berger angewandte, durch Anwelkenlassen die Stomata zum Verschluß zu bringen, bei unserer Fragestellung von selbst. Daß Dunkelheit unter den geschilderten Versuchsbedingungen zu keinem genügend zuverlässigen Spaltenschluß führt, geht aus folgenden beiden Versuchsreihen hervor. In untenstehender Tabelle 1 sind die Veränderungen der Transpiration während der ersten 48 Stunden Dunkelkammeraufenthalt für 3 p_H-Stufen (sauer, neutral und alkalisch) angeführt; zwecks Ausschaltung individueller Schwankungen ist die Anfangstranspiration jeder Reihe gleich 100 gesetzt und die folgenden Werte auf diese bezogen worden (hier und im folgenden als relative Transpiration bezeichnet).

Tabelle 1. Relative Transpiration bei verschiedenem p_H.

Pflanze	p_H	0	17	24	30	48
		Stunden				
Liquidambar	3,5	100	164	225	120	74
	7,0	100	160	206	—	108
	10,0	100	124	143	54	46
Tilia	3,5	100	120	95	118	109
	7,0	100	102	54	105	67
	10,0	100	87	75	62	49
Wasser		100	110	97	97	93

[1] Durch die für die Herstellung des sauersten Puffers von p_H 2 nötige HCl wurde wohl ein neues Ion eingeführt. Er konnte jedoch oft ohneweiteres fortgelassen werden, da dieser Puffer bisweilen schädigend wirkte und gegenüber dem nächsten von p_H 3,5 nichts wesentlich Neues zeigte.

Für den sauren Bereich ergibt sich demnach eine wesentlich höhere Transpirationsrate als für den neutralen bzw. den alkalischen; die gleichzeitig durchgeführten Infiltrationsproben ergaben in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (Linsbauer, Scarth, Freudenberger) eine trotz Dunkelheit erzwungene Spaltenöffnung unter dem Einfluß der H-Ionen[2]. Damit stehen diese Befunde auch mit denen Nicolič' in Einklang, welcher gleichfalls eine, vorwiegend durch die stomatäre Komponente bedingte Transpirationserhöhung nach Säurezufuhr feststellen konnte. Für unsere Versuche ergibt sich daraus, daß angesichts der mit verschiedenster Methodik gewonnenen übereinstimmenden Ergebnisse das Aufsaugenlassen der Puffer eine geeignete Form ihrer Appli-

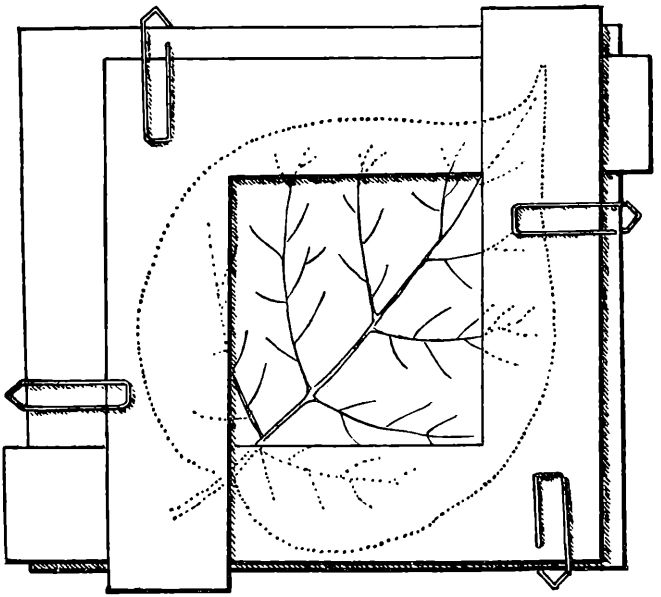

Abb. 1.
Papperahmen zur Bestimmung der kutikularen Transpiration.

[2] Bei *Tilia* scheint selbst im annähernd konstanten Dunkelzimmer (vgl. die gleichzeitig ermittelten Verdunstungswerte der freien Wasseroberfläche!) im sauren und neutralen Bereich eine Art tagesperiodische Schwankung der Transpiration nachzuwirken. Es sei hier nur an einen ähnlichen Befund Kerls an Tradescantia — Abnahme der Transpiration trotz Spaltenöffnung bei nächtlicher Zusatzbeleuchtung — erinnert.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

kation darstellt, daß jedoch auf diesem Wege keine Ausschaltung der stomatären Transpiration möglich ist. Es bleibt demnach nur ihre mechanische Ausschaltung.

Da unsere Versuchsobjekte sämtlich hypostomatisch sind, gingen wir zunächst in der Weise vor, daß wir die Unterseiten zweier annähernd gleich großer Blätter mit Vaseline bestrichen und die Blätter dann mit den beschmierten Seiten aneinanderklebten; so ist wohl zuverlässig jede unkontrollierte Wasserabgabe verhindert und die Kutikulartranspiration (in der Folge KTr. abgekürzt) rein erfaßt. In weiterer Folge der Versuche zwang jedoch die zeitbedingte Notwendigkeit der Einschränkung des Vaselineverbrauches zu einer Änderung der Methode. Die Blätter wurden auf kleine quadratische Kartonstücke gelegt und mit zwei Pappewinkeln so abgedeckt, daß die Blattoberseite wie in ein rechteckiges Fenster zu liegen kam und ungehindert transpirieren konnte, während die Wasserabgabe der Unterseite weitestgehend gehemmt war. Die Pappewinkel wurden mit Büroklammern an der Unterlage festgeklemmt (Abb. 1). Neben raschem und sauberem Arbeiten ergaben sich durch diese Methode noch zwei weitere Vorteile: erstens konnte nunmehr die Oberflächenbestimmung wesentlich einfacher ohne Planimeter erfolgen und zweitens ließen sich so Transpirations- und Quellbarkeitsbestimmung an ein und demselben Blatte durchführen. Vergleichsmessungen ergaben gute Übereinstimmung mit den Werten nach der Verschmiermethode.

Die p_H-Abhängigkeit der Kutikulartranspiration.

Wir wollen zunächst untersuchen, ob und in welcher Weise die KTr. durch die Puffer beeinflußt wird. Zur ersten Orientierung sind in Tabelle 2 zunächst die Bruttotranspirationswerte dreier Versuchspflanzen nach 24stündiger Einwirkung der einzelnen Puffer angeführt. Sie bestätigen die bereits oben erwähnte Erscheinung der Spaltenöffnung bzw. Erhöhung der Bruttotrans-

Tabelle 2. Relative Brutto- und Kutikulartranspiration bei verschiedenem p_H.

Transpirationswerte in % der Anfangstranspiration

p_H	*Tilia*		*Ampelopsis*		*Liquidambar*	
	Brutto	KTr	Brutto	KTr	Brutto	KTr
2,0	111	16,7	92	10,7	145	
3,5	95		64		225	11,0
4,8	92		47		215	
5,8	53		62	18,0	207	
7,0	54		39	21,7	206	
8,2	31	26,7	47		147	
9,5	75		107	18,0	143	17,0
11,0	98		—		—	

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

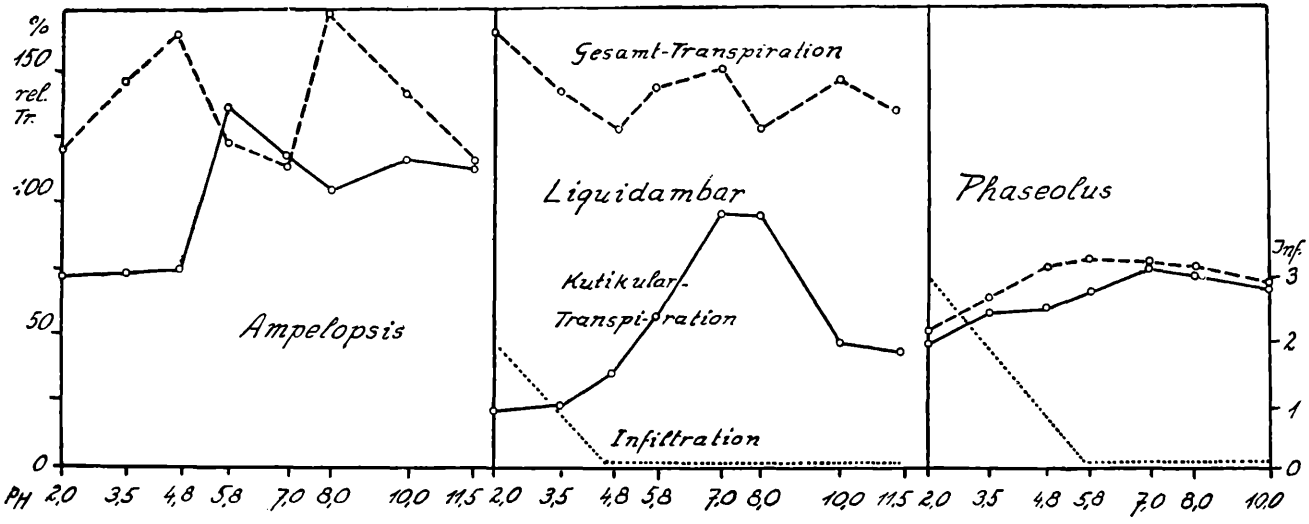

Abb. 2.

Gesamt- und Kutikulartranspiration von drei Versuchspflanzen bei verschiedenem p_H. Transpirationswerte in Prozenten der Anfangstranspiration der jeweiligen Probe.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

piration im sauren Bereich. Um den Neutralpunkt erreicht sie (wiederum in % der Anfangstranspiration ausgedrückt) ihr Minimum. Nach 24 Stunden wurden die Blätter mit den maximalen bzw. minimalen Transpirationswerten in der im vorigen Abschnitt geschilderten Weise verschmiert und die KTr. bestimmt; die diesbezüglichen Wertepaare stammen also von ein und denselben Blättern.

Kutikuläre und stomatäre Transpiration werden also durch die H-Ionen keineswegs in gleichem Sinne beeinflußt; mit aller Deutlichkeit zeigt sich der höhere Wert der KTr. in der Gegend des Neutralpunktes, gerade dort, wo die stomatäre Komponente ihr Minimum aufweist! Dabei sind die Unterschiede so groß (bis über 100%), daß sie weit über die individuelle Fehlerbreite hinausgehen; überdies sind sie auch jederzeit reproduzierbar. Im folgenden seien noch, um dies zu belegen, aus den in anderem Zusammenhang später zu besprechenden Kurven drei typische Fälle herausgegriffen. Wiederum sind Bruttotranspiration (gestrichelte Linie) und KTr. (ausgezogen) jeweils an den gleichen Blättern bestimmt und in % der Anfangstranspiration ausgedrückt worden.

Bei *Ampelopsis* sind im sauren Bereich die Spalten geöffnet, die Gesamtwasserabgabe nimmt mit fallender C_H ab; um den Neutralpunkt ist der tiefste Wert erreicht, ein zweites Maximum der Bruttotranspiration tritt im alkalischen Gebiet auf. Die KTr. zeigt in ausgesprochenem Maße den obenerwähnten gegensinnigen Gang, ihr Maximum fällt ziemlich genau mit dem Minimum der Bruttotranspirationskurve zusammen. Bei *Liquidambar* kehrt der gleiche Gang der KTr. wieder, mit aller Deutlichkeit hebt sich ihr Maximum bei p_H 7 heraus; ferner zeigt sich auch hier wieder, wenigstens im stark sauren Bereich, die Gegenläufigkeit der Gesamttranspiration, die wiederum durch Spaltenbewegung bestimmt ist (vgl. Infiltrationsbefund). Im schwach sauren Bereich scheint die Kurve der Bruttotranspiration durch den prozentual recht erheblichen Anteil der KTr. an der Gesamtwasserabgabe zu einem sekundären Maximum emporgezogen zu sein. Die im alkalischen Bereich wieder auftretende Divergenz der beiden Kurven stellt eine Analogie zu *Ampelopsis* dar.

Auch im dritten angeführten Fall, bei *Phaseolus,* scheint die im sauren Milieu erzwungene Spaltenöffnung wieder auf, jedoch nur auf Grund des Infiltrationsbefundes, sie besitzt dagegen im Bruttotranspirationsgang keinerlei Parallele. Letzterer verläuft vielmehr auffallenderweise und im Gegensatz zu allen übrigen untersuchten Pflanzen der Kurve der KTr. weitgehend symbat, die Gesamttranspiration erscheint demnach nahezu ausschließlich

durch die KTr. bestimmt! Wir haben es hier also mit einer Transpirationsabnahme trotz geöffneter Spalten zu tun, mit einem auf experimentellem Wege erzeugten Incipient drying. Die durch die H-Ionen induzierten Transpirationswiderstände greifen offenbar auch auf die inneren Oberflächen des Schwammparenchyms über; wir dürfen uns vorstellen, daß diese Widerstände infolge der geringeren Kutikularisierung und der dadurch bedingten größeren Porenweite der Membranen dort erst bei einer höheren C_H wirksam werden als an den äußeren Blattflächen. Damit fände sowohl der der KTr. von *Phaseolus* etwas vorauseilende Anstieg der Bruttotranspiration seine Erklärung, wie auch der bei p_H 4,8 einsetzende Anstieg der Bruttotranspiration von *Liquidambar*. Die Transpirationswiderstände werden im Schwammparenchym offenbar schon bei einer höheren p_H-Stufe beseitigt als in der Kutikula.

Von einigen weiteren Versuchsobjekten seien im folgenden in Ergänzung zu Tabelle 1 lediglich die Kardinalwerte, die Relativtranspiration im sauren, neutralen und alkalischen Bereich, angeführt; die Wiedergabe der vollständigen Kurven würde uns nichts Neues mehr zeigen.

Tabelle 3. Relativwerte der Brutto- und der Kutikulartranspiration in 3 p_H-Stufen.

(Anfangstranspiration = 100.)

Pflanze	p_H 2–3, 5		p_H 6–7		p_H 8–9	
	Brutto	KTr	Brutto	KTr	Brutto	KTr
Acer . .	95	32	85	52	100	96
Betula .	88	36	45	40	68	38
Lamium	39	11	33	36	66	25
Impatiens	69	17	25	20	24	10
Corydalis	31	18	35	33	45	43

Auch diese Werte bestätigen im wesentlichen das oben Gesagte, nämlich eine entgegengesetzte Reaktionsweise der stomatären und der kutikulären Transpirationsrate bei verschiedenem p_H. Wieder ist auch hier die KTr. im neutralen Bereich im Maximum, während die Stomatärtranspiration ihren Minimalwert aufweist. Zwar weisen *Acer* und *Corydalis* im ganzen untersuchten p_H-Bereich eine steigende Tendenz ihrer KTr. auf, doch ist bei *Acer* die Gegenläufigkeit im sauren Teil der Kurve deutlich zu erkennen; auch bei *Corydalis* ist der Anstieg der KTr. im sauren Bereich

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

wesentlich steiler, was offensichtlich mit der zunehmenden Ausschaltung der stomatären Komponente zusammenhängt. Im neutralen und alkalischen Bereich erscheint die Gesamtwasserabgabe im wesentlichen durch die KTr. bestimmt.

Lassen sich auch die angeführten Erscheinungen zwanglos auf Membraneffekte zurückführen, so darf doch nicht außer acht gelassen werden, daß Ähnliches auch durch das Protoplasma, etwa infolge Änderung der Wasserpermeabilität bzw. partieller Schädigung, hervorgerufen werden könnte. Wir müssen daher trachten, uns über die unmittelbare Ursache und die Lokalisation der Transpirationsänderungen Klarheit zu verschaffen.

Vorversuche mittels normaler Plasmolyse ergaben zunächst, daß die Epidermiszellen der mit Pufferlösungen über p_H 3,5 behandelten Blätter sich stets völlig normal plasmolysieren ließen und auch die Deplasmolyse glatt vertrugen; auch äußerlich zeigten die Blätter keinerlei Anzeichen einer Schädigung. Lediglich im ersten und letzten Puffer der Reihe (p_H 2 bzw. 11) trat bei einigen Versuchspflanzen (z. B. *Tilia, Impatiens*) Gelb- bis Braunfleckigkeit bzw. vorzeitiges Welken auf. In diesen Fällen waren auch die Protoplaste der Epidermiszellen geschädigt. Diese Puffer wurden in solchen Fällen meist weggelassen; ein Blick auf Abb. 2 lehrt jedoch, daß dadurch unsere Ergebnisse bzw. die bisher daraus gezogenen Folgerungen in keiner Weise berührt werden. Zur genaueren Untersuchung der oben angeschnittenen Fragen wären natürlich exakte Wasserpermeabilitätsbestimmungen wünschenswert. Leider bereitet bekanntlich gerade bei zellphysiologischen Untersuchungen die Übertragung einer Methode auf ein bestimmtes Objekt oft beträchtliche Schwierigkeiten; die unregelmäßig geformten Epidermiszellen ließen, namentlich an Schnitten, exakte Bestimmungen aussichtslos erscheinen. Um jedoch wenigstens einen Anhaltspunkt für etwa auftretende plasmatische Änderungen zu gewinnen, wurde versucht, die Deplasmolysezeit in Wasser sowie die Geschwindigkeit der Glyzerin- und Harnstoffpermeation für 3 p_H-Stufen (p_H 3,5, 7 und 10) untereinander zu vergleichen. Zur größeren Sicherheit verblieben die für diese Proben vorgesehenen Blätter 1—1½ Tage länger in die Puffer eingestellt, als dies für die Transpirationsuntersuchungen die Regel war; hierauf wurden Flächenschnitte der oberen Epidermis nach einigen Minuten Wässern in die Plasmolytica (0,5 und 1,0 molar) übertragen.

Nach Plasmolyse in KNO_3 verlief, wie bereits erwähnt, die Deplasmolyse rasch und glatt, sie war in wenigen Minuten beendet. Irgendwelche eindeutige Unterschiede in der Deplasmolysezeit der einzelnen Proben ließen sich nicht feststellen. Für die Glyzerin-

und Harnstoffpermeation vermag untenstehende Tabelle 4 Anhaltspunkte zu geben.

Tabelle 4. Glyzerin- und Harnstoffpermeation (Deplasmolyse) einiger Versuchspflanzen nach Vorbehandlung mit Puffern von verschiedenem p_H.

Pflanze	p_H	Deplasmolysegrade (geschätzt)	
		0,5 mol Glycerin nach 2 Stunden	1,0 mol Harnstoff nach 1 Stunde
Tilia	3,5	0,95	Grenzdeplasmolyse
	7,0	0,95	„
	10,0	0,95	„
Liquidambar	3,5	0,95	0,9
	7,0	0,95	0,9
	10,0	0,95	0,9
Loiseleuria	3,5	Grenzdeplasmolyse	deplasmolysiert
	7,0		
	10,0		

Diese Beobachtungen lassen unter Berücksichtigung der in Material und Methode liegenden Fehlermöglichkeiten immerhin erkennen, daß durch die von uns geübte Applikation der Puffer höchstens relativ geringfügige Änderungen der Permeabilitätseigenschaften des Protoplasmas induziert werden, daß sie keinesfalls als die alleinige Ursache der Schwankungen der KTr. angesprochen werden können.

Wenn dies zutrifft, muß es gelingen, ähnliche Änderungen der KTr. nach Applikation der Puffer unter völliger Umgehung des Plasmaweges, also von außen her, zu reproduzieren und sie selbst nach völliger Ausschaltung der plasmatischen Komponente, also nach Abtötung, wiederzufinden. Zu diesem Zwecke legten wir die intakten Blätter nach Feststellung ihrer Anfangstranspiration verschiedenlange Zeit in die Pufferlösungen (5 Minuten bis 24 Stunden); nach Abtrocknen mit Filtrierpapier und einigem weiteren Zuwarten, bis der der Blattoberfläche anhaftende Flüssigkeitsfilm völlig abgetrocknet war, wurde nunmehr nach der „Rahmenmethode“ die KTr. bestimmt, worauf die Blätter in eine feuchte Kammer kamen, deren Luft mit Chloroform gesättigt war. Nach drei Stunden war die Farbe der Blätter in ein Schmutzigbraun

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

umgeschlagen; die mikroskopische Kontrolle ergab, daß auch die Epidermiszellen tot und unplasmolysierbar waren. Nunmehr wurde neuerlich die KTr. bestimmt. In nachstehender Tabelle sind die Ergebnisse für einige Versuchspflanzen zusammengestellt. Zwecks größerer Übersichtlichkeit sind die Tr.-Werte wieder in Relativzahlen umgerechnet und in % der Tr. bei $p_H \sim 7$ angegeben.

Tabelle 5. Relative Kutikulartranspiration lebender und abgetöteter Blätter bei verschiedenem p_H.

(Transpirationswerte bei p_H 7,0 gleich 100.)

Pflanze	p_H	5 Min. m. d. Oberseite auf Puffer schwimmend	2 Stunden in Puffer untergetaucht	Nach 3 Stunden Chloroform
Acer	2,0	85	85	74
	4,8	100	102	94
	7,0	100	100	100
	9,5	113	138	113
Pflanze	**p_H**	**24 Stunden in Puffer eingestellt**	**2 Stunden in Puffer untergetaucht**	**Nach 3 Stunden Chloroform**
Tilia	2,0	79	84	75
	4,8	88	100	96
	7,0	100	100	100
	9,5	104	113	114
Liquidambar	2,0	78	—	—
	4,8	96	78	85
	7,0	100	100	100
	9,5	197	124	109
	(aus der gewichtsbezogenen KTr. berechnet)			
Loiseleuria	2,0	45	38	86
	4,8	39	48	73
	7,0	100	100	100
	9,5	191	81	159

Es erscheint demnach keineswegs erforderlich, die Puffer auf dem immerhin längere Zeit erfordernden Weg über den aufsteigenden Saftstrom durch das Blatt hindurch einwirken zu lassen; der Anstieg der KTr. von sauer gegen neutral tritt sowohl in qualitativ

wie auch in quantitativ übereinstimmender Weise auch nach Applikation der Lösungen von außen her auf. Wie das Beispiel von *Acer* zeigt, genügt sogar lediglich die Benetzung der untersuchten Blattfläche (also der Oberseite), wobei der Effekt bereits nach 5 Minuten Einwirkungszeit sichtbar ist! Auch diese Beobachtungen machen es recht unwahrscheinlich, daß die Transpirationsänderungen über das Plasma bewirkt werden. Ein Durchtritt der Puffer durch die Kutikula ist innerhalb so kurzer Zeiträume (5 Minuten) kaum denkbar. Am eindeutigsten können wir jedoch die plasmatische Komponente durch die Chloroformierungsversuche ausschließen. Deutet schon die in Übereinstimmung mit Haberlandt beobachtete nur geringfügige Änderung der Transpiration nach dem Abtöten auf eine Lokalisation der Transpirationswiderstände in der Außenmembran, so beweist auch die nahezu quantitative Übereinstimmung der Amplitude zwischen sauer und alkalisch bei den lebenden und den chloroformierten Blättern, daß die durch das p_H induzierten Änderungen nicht im Plasma, sondern in den Gerüstsubstanzen festgelegt sind[3].

Transpirations- und Quellungskurven.

Hier erhebt sich nun die Frage, ob sich auch anderweitige, mit der KTr. zusammenhängende und übereinstimmende Veränderungen an den Gerüstsubstanzen auffinden lassen. Wir haben nun versucht, zur Klärung dieser Frage die Quellbarkeit der Membranen (Härtel 1943) heranzuziehen. Die Blätter wurden, nachdem mittels der Rahmenmethode ihre KTr. bestimmt worden war, bei 105° getrocknet, pulverisiert und in bereits geschilderter Weise 48 Stunden bei 95% rel. Luftfeuchtigkeit quellen gelassen. Die in % des Trockengewichtes ausgedrückte Gewichtszunahme ist in untenstehender Abb. 3 als Ordinate aufgetragen. Gleichzeitig mit den Quellungskurven (dick ausgezogene Linien) sind die entsprechenden Werte der KTr. (dünne Linien) wiedergegeben; KTr. und Quellbarkeit wurden also für jede p_H-Stufe jeweils an denselben Blättern bestimmt.

Betrachten wir zunächst die Kurven der KTr. (dünne Linien), so können wir die gleiche p_H-Abhängigkeit wie in unseren früheren

[3] Ein Unterschied fällt allerdings beim Vergleich der Kurven nach der Aufsaug- und der „Wässerungs"-Methode auf: während wir nach der ersteren in der Regel Maximumkurven beobachten konnten (mit Ausnahme von *Tilia* und *Acer*), nimmt beim Einlegen der Blätter in die Puffer die KTr. auch im alkalischen Bereich noch weiterhin zu. Welcher Kurvenverlauf nun den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, werden wir auf Grund der folgenden Versuche entscheiden können.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

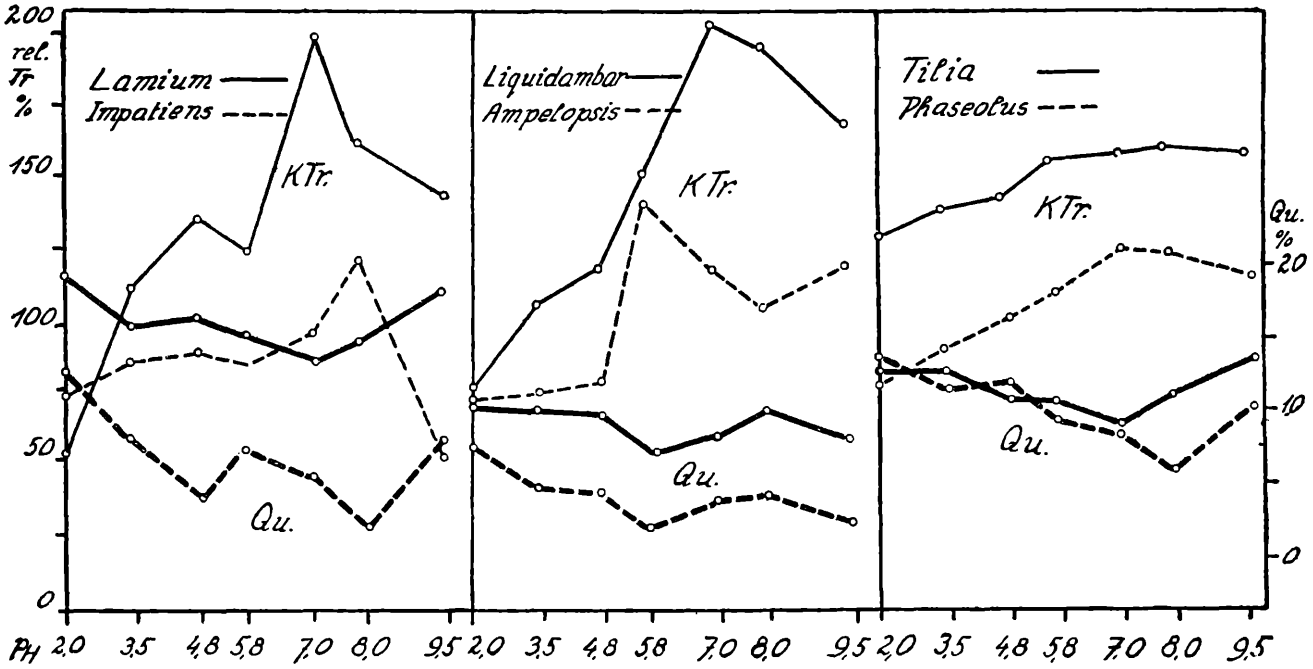

Abb. 3.

Kutikulartranspiration und Membranquellbarkeit von 6 Versuchspflanzen bei verschiedenem p_H. Transpirationswerte in Prozenten der Anfangstranspiration der jeweiligen Probe. (Dünne Linien = Kutikulartranspiration, dicke Linien = Quellbarkeit.)

Versuchen finden (es handelt sich durchweg um Versuche nach der Aufsaugmethode). In 5 von den 6 angeführten Fällen tritt uns eine deutliche Maximumkurve entgegen, wobei die Lage des Maximums von Pflanze zu Pflanze etwas variiert. Lediglich bei *Tilia* nimmt die KTr. auch im alkalischen Bereich im flachen Kurvenanstieg noch ein wenig zu und erinnert damit an das Verhalten von *Acer* (vgl. Tabelle 3).

Bei *Impatiens* dagegen treten in der KTr.-Kurve zwei Maxima auf, was wir zunächst für einen Versuchsfehler hielten. Vergleichen wir jedoch damit die Quellungskurven (dick ausgezogene Kurve), so zeigt sich, daß sie einen genau reziproken Verlauf nimmt! Dem steilen Maximum im neutralen Bereich entspricht ein ebensolches Minimum der Qu., und auch das flache Nebenmaximum der KTr. um p_H 4,8 kehrt in der Qu.-Kurve als recht ausgeprägtes Minimum wieder. In ähnlicher Weise fällt bei *Lamium* das Hauptmaximum mit einem deutlichen Minimum der Qu. zusammen, das Nebenmaximum der KTr. im sauren Bereich findet sich in einer etwas weiter nach der sauren Seite hin verschobenen flachen Mulde der Qu.-Kurve angedeutet. Eine ähnliche geringfügige Verschiebung des Minimums der Qu. gegenüber dem dazugehörigen Maximum der KTr. findet sich bei *Liquidambar*, die Kurven zeigen aber sonst den gleichen, das heißt reziproken Verlauf. Solche relativ geringe Verschiebungen der Maxima bzw. Minima gegeneinander sind wohl dadurch zu erklären, daß auch die Membransubstanz ein gepuffertes System darstellt (Small), mit dem sich der Phosphatpuffer in ein Gleichgewicht setzt; dies ist wohl einmal der Grund, warum Versuche über die Reversibilität der Pufferwirkung bislang zu keinem eindeutigen Resultat geführt haben; zum anderen kann dieses Gleichgewicht durch die Hitzebehandlung beim Trocknen noch nachträglich verschoben werden, z. B. durch teilweise Ausfällung von PO_4''' durch $Ca^{\cdot\cdot}$. Diese Verschiebungen sind jedoch keinesfalls so bedeutend, daß sie nicht eine enge Beziehung zwischen den Qu.- und den KTr.-Kurven erkennen ließen, die auf einen ursächlichen Zusammenhang hindeuten.

Außerordentlich stark ist der Ausschlag der KTr. bei *Rhododendron ferrugineum*. Es wurden davon zwei Proben von verschiedenen Standorten untersucht: die eine stammte von einer stark windverblasenen Stelle der Koralpe, die Pflanze war recht kümmerlich und dem Boden fest angedrückt; die zweite Probe wurde an einem etwa 150 m tiefer gelegenen Standort, einer windgeschützten Stelle, gesammelt und machte einen üppigen, kräftigen Eindruck. Ein Vergleich beider Proben (Abb. 4) ergibt zu-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

nächst die bei früheren Untersuchungen (Härtel 1943) festgestellte Tatsache, daß die Qu. mit der Verschlechterung der Lebensbedingungen (Vorrücken gegen die Verbreitungsgrenze) abnimmt. Die p_H-Kurve der Qu. zeigt wieder die typische Gestalt mit einem Minimum im schwach sauren bzw. neutralen Gebiet und verläuft der Kurve der KTr. genau antibat. Die KTr. der windexponierten

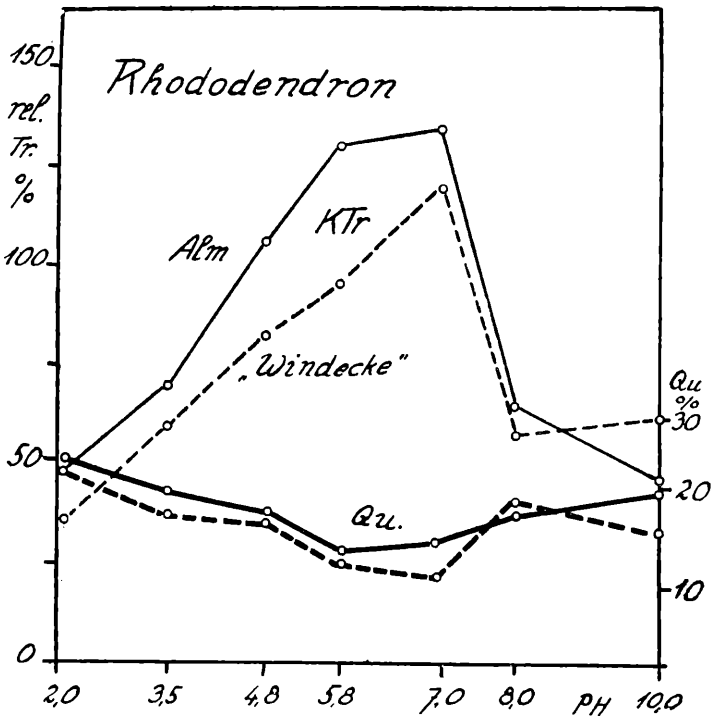

Abb. 4. Kutikulartranspiration und Membranquellbarkeit von *Rhododendron ferrugineum* zweier verschiedener Standorte bei verschiedenem p_H.

Pflanze liegt in Übereinstimmung mit erwähnter Untersuchung etwas unter der der windgeschützten und zeigt ein spitzeres Maximum. Infolgedessen führt also bei der ersteren Pflanze im Bereiche um den Neutralpunkt die gleiche Verschiebung des p_H-Wertes eine prozentual stärkere Einschränkung der KTr. herbei als beim windgeschützten Exemplar mit seinem breiteren Maximum. Für die Ökologie der betreffenden Pflanzen kann dies durchaus zweckmäßig

erscheinen; an die KTr. der Pflanzen windverblasener Stellen werden wesentlich höhere Anforderungen gestellt, ist doch eine eingeschränkte KTr. der einzige Schutz vor dem winterlichen Vertrocknungstod (Pisek und Cartellieri). In Übereinstimmung damit ist bei der dritten untersuchten alpinen Ericacee, *Loiseleuria procumbens,* die Amplitude der KTr. noch wesentlich größer; mit

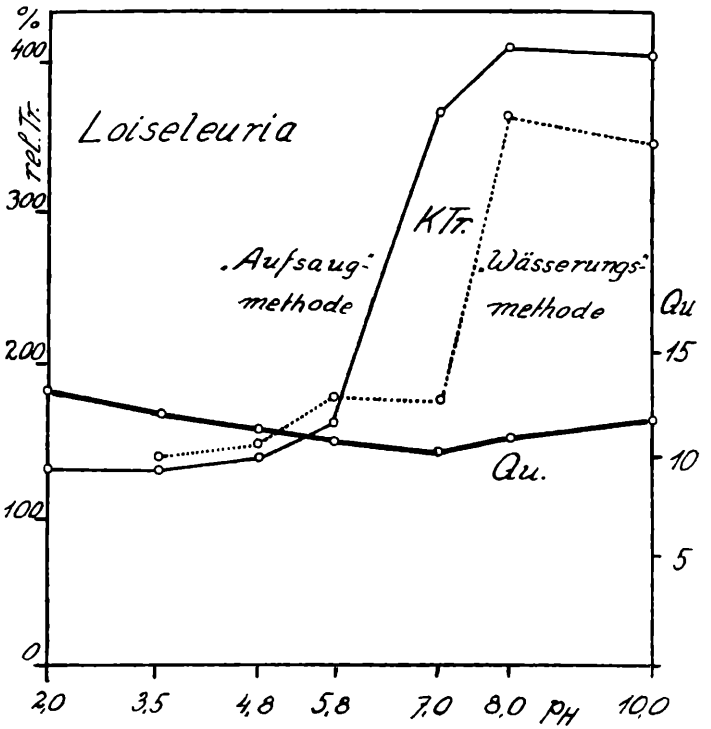

Abb. 5. Kutikulartranspiration (nach der Aufsaug- und der Wässerungsmethode) und Membranquellbarkeit von *Loiseleuria procumbens* bei verschiedenen p_H.

einer Schwankungsbreite von 1 : 3 steht sie an der Spitze aller Versuchspflanzen, die ausgiebigste Verschiebung erfolgt im Bereich zwischen p_H 4 und 5; hier muß sich eine geringfügige p_H-Änderung bereits sehr stark in der KTr. auswirken (Abb. 5). Wieder kann dieses interessante Verhalten von *Loiseleuria* ohneweiteres mit ihrer Ökologie als ausgesprochener Windeckenpflanze in Einklang gebracht werden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Diskussion.

Bevor wir jedoch derartige Möglichkeiten weiter in Betracht ziehen, müssen wir uns noch etwas eingehender mit den Grundlagen und den Voraussetzungen dieser Erscheinungen auseinandersetzen. Wir konnten, um unsere bisherigen Ergebnisse kurz zusammenzufassen, feststellen, daß sich die Kutikulartranspiration mit experimentell induzierter Änderung des p_H der Blattgewebe (Zufuhr von Pufferlösungen) in Form einer Maximumkurve ändert. Die den Kurven der KTr. entgegengesetzt verlaufenden Quellungskurven deuten auf enge Beziehungen zwischen den beiden Größen hin. Der Verlauf der Kurven läßt Zusammenhänge mit dem isoelektrischen Punkt der Gerüstsubstanzen vermuten. Ähnlich den einfachen Kolloiden (z. B. Gelatine) zeigen auch die Pflanzenpulver ein Minimum der Quellbarkeit (bei p_H-Werten zwischen 5 bis 7), das dem IEP der Membranen entsprechen könnte; mit steigendem bzw. fallendem p_H (vom IEP aus gesehen) nimmt die Quellbarkeit zu. Ein Vergleich unserer Kurven mit den Längenänderungen von Gewebsstreifen in Rohrzuckerlösungen von verschiedenem p_H (Hertel) zeigt eine geradezu frappante Ähnlichkeit. Sogar die zweigipflige Qu.-Kurve z. B. von *Impatiens* (vgl. Abb. 3) mit ihren Minima bei p_H 4,8 und 8,2 (und bis zu einem gewissen Grade auch die von *Lamium*) findet in den bei Hertel wiedergegebenen Kurven von *Claytonia, Lactuca* oder *Zea mays* mit Minima der Längenänderung bei p_H 5 bzw. 7,5—7,8 deutliche Parallelen[4]. Es bestätigt sich also auch mit unserer Methodik die Unmöglichkeit einer Annahme eines einheitlichen IEP für die lebende Substanz (z. B. Strugger 1938).

Vergleichsweise durchgeführte Färbungsversuche mit gepufferten Neutralrotlösungen ergaben z. B. für *Ampelopsis* ein Aufhören der Membranfärbbarkeit von p_H 5,8 aufwärts, so daß der IEP der Membran zwischen p_H 5,2 (dem nächst niedrigeren verwendeten Puffer) und 5,8 angenommen werden kann; Quellungsminimum bzw. Maximum der KTr. liegen im gleichen p_H-Bereich. Auch *Liquidambar* weist bei p_H 5,8 eine eben noch erkennbare Membranfärbung auf, welcher p_H-Wert gleichfalls mit dem Qu.-Minimum zusammenfällt. Bei *Tilia* dagegen beginnt wohl eine Zellinhaltsfärbung bei p_H 5,8, doch färbt sich die Membran auch noch in höheren p_H-Werten bis etwa gegen den Neutralpunkt; in Übereinstimmung damit liegt auch das Qu.-Minimum von *Tilia* bei p_H 7, und ihre KTr.-Kurve läßt, wie bereits gezeigt, ein deutliches Maximum vermissen. Ähnlich verhält sich *Acer*.

[4] Wir glauben uns daher zu der Annahme berechtigt, daß die bei der Blattstreifenmethode (und den anderen ähnlichen Methoden der Saugkraftbestimmung) auftretenden störenden anosmotischen Kräfte in Quellungsvorgängen innerhalb der Membranen ihre Ursache haben könnten.

Wenn wir auch den Färbungsversuchen angesichts der aus der Ungunst der Objekte sich ergebenden Schwierigkeiten (*Rhododendron* und *Loiseleuria* z. B. versagten gänzlich) nicht allzu großes Gewicht beimessen wollen, so stellen sie immerhin eine Bestätigung für unsere Annahme eines Zusammenhanges der besprochenen Erscheinungen mit dem IEP der Zellwände dar.

Wir müssen uns nun die Frage vorlegen, ob ähnliche Änderungen der KTr. auch im Laufe der natürlichen Lebensvorgänge, ohne Zutun des Experimentators, in erkennbarem Maße auftreten, und ob auch diese durch p_H-Schwankungen hervorgerufen sind, mit anderen Worten ob derartige p_H-Schwankungen in der Pflanze tatsächlich realisiert sind.

Wenn wir auch zur Beantwortung dieser Fragen noch über kein entsprechend ausgedehntes Beobachtungsmaterial verfügen, so sollen im folgenden doch einige Tatsachen angeführt werden, die bereits in eine bestimmte Richtung weisen und den Weg weiterer Untersuchungen vorzeichnen. So konnten wir zunächst beim Einlegen der ganzen Blätter in die Pufferlösungen (bei den „Wässerungsversuchen"), abgesehen von den spezifischen Änderungen der KTr. im Sinne der früher besprochenen Kurven, eine generelle Verschiebung der Höhe der KTr. wahrnehmen. Diese Änderung war nicht bei allen Pflanzen gleichsinnig; bei einigen trat eine Erhöhung, bei anderen hingegen eine starke Herabsetzung der KTr. auf[5]. Unter gewissen Voraussetzungen lassen sich jedoch diese divergenten Beobachtungen mit unseren bisherigen Ergebnissen in Einklang bringen. Es ist anzunehmen, daß es sich bei der Änderung der KTr. nach Einwirkung von Flüssigkeiten um Auswaschungsphänomene handeln dürfte. Daß eine Ausscheidung von Salzen in die Membran bzw. die Kutikula stattfinden kann, haben bereits Arens und Lausberg nachweisen können; es handelt sich dabei vorwiegend um Salze basischer Natur, die also den p_H-Wert der betreffenden Membranen erhöhen. Interpolieren wir also auf Grund unserer Kurven die KTr.-Werte für p_H 7—8 (was etwa schwachen $NaHCO_3$-Lösungen entspricht) und vergleichen wir sie mit den Transpirationswerten bei Annäherung an den tatsächlichen p_H-Wert der Kutikula von etwa p_H 5—6 (Small) nach dem Auswässern, so ergeben sich umstehende Verhältnisse (Tabelle 6).

Unter den gemachten Voraussetzungen gelingt es also tatsächlich, die Änderungen der KTr. nach dem Wässern bzw. der Pufferbehandlung mit dem Verlauf der jeweiligen p_H-Kurve der KTr. in Zusammenhang zu bringen (vgl. Abb. 3). Bei den „normalen"

Vgl. auch Burgensteins Angaben bezüglich Erhöhung der Wasserdurchlässigkeit der Kutikula nach Imbibition; dagegen Kohl (1895) mit entgegengesetztem Ergebnis!

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 6. Relative Kutikulartranspiration nach Einwirkung von Wasser bzw. Pufferlösungen (24 Stunden).

Nähere Erklärung vgl. Text.

Pflanze	Kutikulartranspiration nach Aufsaugen von			Kutikular-transpiration	
	p_H 8	7	5,8	nativ	gewässert
Liquidambar	100	131	95	100	108
				100	115*
Ampelopsis	100	118	135	100	116
Acer	100	55	40	100	41
Tilia	100	96	86	100	84
				100	37*
Impatiens	100	80	65	100	49

* Nach 24stündigem Aufenthalt im Puffer p_H 7,0.

Kurven mit einem Tr.-Maximum im neutralen bzw. schwach sauren Gebiet fällt die angenommene p_H-Verschiebung in den steigenden Ast der Kurve (*Liquidambar, Ampelopsis*), dementsprechend ist als Auswaschungseffekt eine Erhöhung der KTr. zu verzeichnen. Bei *Impatiens,* dessen Maximum der KTr. weiter im alkalischen Gebiet (ca. bei p_H 8) liegt, ferner bei *Tilia* und *Acer,* die im ganzen untersuchten p_H-Bereich eine mehr oder weniger starke Zunahme der KTr. mit steigendem p_H aufweisen, muß die Auswaschung v. v. zu einer Abnahme der KTr. führen. Die KTr. von *Loiseleuria* nach Einlegen in die Puffer ist in Abb. 5 als punktierte Linie eingetragen; der steile Transpirationsanstieg tritt auch hier in fast dem gleichen Ausmaße wie nach der Aufsaugmethode auf, er erscheint nur in etwas höheres p_H verschoben. Auch diese Beobachtung fügt sich in obige Erklärungsmöglichkeit ein: durch die Eluation der basischen Salze aus der Kutikula tritt eine leichte Ansäuerung und damit ein Abfall bereits in Puffern von höherem p_H ein, während im nativen Blatt ein Teil ihrer Azidität zur Neutralisation verwendet werden muß. Leider konnten die geschilderten Versuche nicht weiter ausgebaut werden; die obigen Beobachtungen stammen vom Ende einer mehrwöchigen Trockenzeit; nach den darauffolgenden Regenfällen wurden die Unterschiede undeutlich, ein Umstand, der gleichfalls für unsere Erklärung als Auswaschungsphänomen spricht!

Die zweite oben gestellte Frage, ob die Pflanze von sich aus zH aktiven Änderungen des p_H-Wertes ihrer Gewebe befähigt ist,

muß auf Grund der Literaturangaben bejaht werden. Gustafson konnte im Preßsaft von *Bryophyllum* nach eintägigem Dunkelstellen eine Abnahme des p_H-Wertes von p_H 5,4 auf 3,8 feststellen; Lynn fand unter den gleichen Umständen eine p_H-Änderung der oberen Epidermis von p_H 5,6 auf 4,0 (zit. n. Small). Nach unseren Erfahrungen müßte dies mit einer Transpirationsabnahme verbunden sein. Eine solche ist z. B. bei den Transpirationswerten der Tab. 1 (nach anfänglichem Anstieg der KTr.[6]) tatsächlich nachzuweisen, konnte aber auch bei allen übrigen Transpirationsbestimmungen immer wieder beobachtet werden. Sie ist jedoch kaum von der Tr.-Abnahme infolge fortschreitender Austrocknung bei längerer Versuchsdauer zu unterscheiden. Von besonderem Interesse erscheint aber in diesem Zusammenhang folgende Beobachtung.

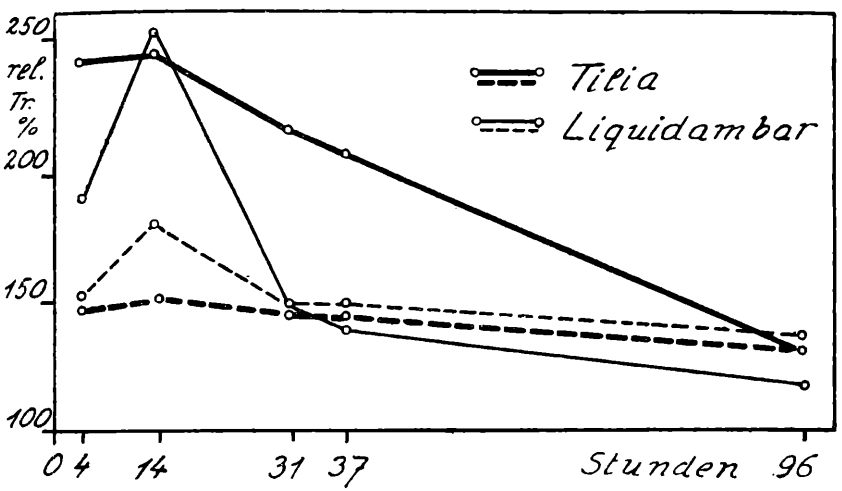

Abb. 6. Zeitlicher Verlauf der Kutikulartranspiration sauer und alkalisch vorbehandelter und verschmierter Blätter bei längerer Versuchsdauer. (Ausgezogene Kurven = verschmierte Blätter, gestrichelte Kurven = Kontrollen.)

Verfolgen wir die KTr. von Blättern, die mit Puffern nach der Aufsaugmethode vorbehandelt und nachher einseitig mit Vaseline verschmiert worden waren, so bleibt sie weder konstant, noch

[6] Es ist immerhin möglich, daß der vorübergehende Anstieg mit einem „Überklettern" des Maximums der KTr. beim Übergang von der schwach alkalischen zur saueren Reaktion zusammenhängt!

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

reagieren die einzelnen Proben gleichartig. Wie Abb. 6 zeigt, weisen die mit sauren Puffern behandelten Blätter erwartungsgemäß niedrigere Werte der KTr. auf, die auch bei längerer Versuchsdauer weitgehend konstant bleiben. Die mit alkalischem Puffer behandelten Blätter verringern dagegen (wiederum nach kurzdauerndem Anstieg in den ersten Stunden) ihre KTr. dauernd, bis sie die gleiche Intensität ihrer kutikulären Wasserabgabe wie die „sauren" Blätter erreicht haben und bleiben dann weiterhin konstant. Wenn wir die oben zitierten Ergebnisse Gustafsons und Lynns auch auf unsere Objekte übertragen dürfen, ergibt sich zwanglos folgende Erklärung: im sauer behandelten Blatt bleibt eine weitere p_H-Verschiebung nach sauer infolge Dunkelstellung wirkungslos; im alkalisch vorbehandelten dagegen wird die alkalische Reaktion allmählich neutralisiert und die Reaktion der in Frage kommenden Gewebe nach sauer verschoben, was als Folge die bekannte Tr.-Abnahme nach sich zieht. Die Ansäuerung kann zum Teil durch den unter anaeroben Bedingungen eintretenden unvollständigen Abbau der Kohlehydrate zu organischen Säuren herbeigeführt werden, in der Hauptsache wird sie wohl eine Folge der CO_2-Anreicherung durch die Atmung sein (Scarth). Nach Osterhout und Dorcas steigt der CO_2-Gehalt von *Valonia macrophysa* nach Dunkelstellung auf das Doppelte an; Mevius macht CO_2-Anreicherung für die Dunkelstarre von *Mimosa Spegazzini* verantwortlich, während umgekehrt Rombeck nach CO_2-Entzug belichteter Laubblätter eine Abnahme der H-Ionenkonzentration feststellt[7]. Die aktuelle H-Ionenkonzentration kann also durch das Verhältnis von Atmung : Assimilation bestimmt angesehen werden (Bünning). In Übereinstimmung damit wurden auch tatsächlich tägliche (Hurd, Truog) sowie jährliche Schwankungen der Azidität der Pflanzengewebe gefunden (Lit. bei Small). Nach Small pflegt die aktuelle Azidität in den Geweben während des Winters anzusteigen und im Sommer wieder zu sinken; die Schwankungen sind nach diesen Befunden in den peripheren Gewebepartien am stärksten, was wieder eine interessante Parallele zu unseren kurzfristigen Wässerungsversuchen darstellt.

Durch diese Angaben findet nun unsere zu Ende vorigen Abschnittes ausgesprochene Vermutung, die durch die p_H-Werte kontrollierten Schwankungen der KTr. könnten ökologische Bedeutung

[7] Die durch die CO_2-Anreicherung veränderte Gewebeazidität nach dem Verschmieren mit Vaseline kann offenbar eine Erklärung für die oftmals beobachtete Tatsache sein, daß die Summe der auf diese Weise erhaltenen Transpirationswerte der Blattober- und -unterseite die Gesamtwasserabgabe übersteigt.

besitzen, eine Stütze. Small gibt für kutinisierte Zellwände von Primelblättern ein p_H von 4,4—5,6 an, für solche von *Helianthus* 4,4, für *Rhododendron ponticum* 4,0 an ausgewässerten Schnitten an. Unter Berücksichtigung des oben diskutierten Auswaschungseffektes dürfen wir im unbehandelten Blatt einen etwas höheren p_H-Wert annehmen. Vergleichsweise angestellte Proben mit uns zur Verfügung stehenden geeigneten Indikatoren (Bromthymolblau, Bromphenolblau und Methylrot) an ungewässerten Schnitten (Auftropfen des Indikators auf ungewässerte Schnitte und makro- und mikroskopische Kontrolle des Farbumschlages) ergab für die obere Epidermis von *Tilia* ein p_H von 5,4—5,8, für *Acer, Liquidambar* und *Loiseleuria* ein p_H zwischen 4,5 und 6,0. Diese Werte liegen auch bei Berücksichtigung der sehr großen Fehlermöglichkeiten sämtlich auf dem absteigenden Ast der KTr.-Kurve; p_H-Verschiebungen werden daher entsprechende Änderungen der KTr. nach sich ziehen, so daß z. B. bei einer winterlichen p_H-Abnahme der Reaktion z. B. bei *Rhododendron* oder *Loiseleuria* die KTr. eine Einschränkung erfahren muß. Versuche über die ökologische Schwankungsbreite der KTr. an verschiedenen Ökotypen sind vorgesehen.

Zum Schluß erhebt sich nun noch die Frage, wie wir uns die Reziprozität zwischen der Kutikulartranspiration und der Quellbarkeit der Membranen vorstellen dürfen. Im allgemeinen gibt ja ein stärker quellbarer Körper auch leichter das Wasser wieder ab; dies gilt auch, in Hinblick auf unsere Fragestellung, für Gele (z. B. Gelatine) bei verschiedenem p_H, wie an Modellversuchen gezeigt werden konnte. Wir bereiteten mit unseren Pufferlösungen 20%ige Gelatine (reinstes Handelspräparat) und kontrollierten auf kolorimetrischem Wege ihre p_H-Werte. Die noch flüssige Gelatine wurde in Glasschalen gegossen und nach dem Erstarren ihre Wasserabgabe ermittelt. Parallel hiezu wurde Gelatinepulver mit Quarzsand $\overline{aa}$ vermengt und mit dem gleichen Volumen Pufferlösung befeuchet; so sollte ein dreiphasiges System symbolisiert werden.

Tabelle 7. Relative Wasserabgabe von Gelatineplatten (20%), Gelatine-Sandgemischen sowie Agarplatten bei verschiedenem p_H.

pH	2,0	3,5	5,0	6,0	7,0	ca. 9
Gelatineplatten . . .	112	105	100	105	112	.
Gelatine-Sandgemisch .	110	105	100	105	113	123
Agarplatten .	97	100	100	100	101	102

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Zur Kontrolle wurden noch in gleicher Weise Agarplatten hergestellt. Vorstehende Tabelle gibt die Verdunstungswerte, bezogen auf die Wasserabgabe der Probe p_H 5 = 100 wieder.

Das Minimum der Wasserabgabe liegt also für die Gelatineplatten um p_H 5, also in der Nähe ihres isoelektrischen Punktes (genauer bei p_H 4,7, n. Brauner). Dasselbe Verhalten zeigt sich auch an den Gelatine-Sandgemischen, während Agar entsprechend seiner ganz anderen chemischen Beschaffenheit (nicht unladbares Gel aus Kohlehydratketten) durch die H-Ionen nur unmerklich beeinflußt wird. Im Modellversuch gehen also, wenn wir die dem lebenden Material zweifellos ähnlichere Gelatine ins Auge fassen, Quellung und Wasserverlust parallel, ganz im Gegensatz zum pflanzlichen Material. Wie ist dies zu erklären?

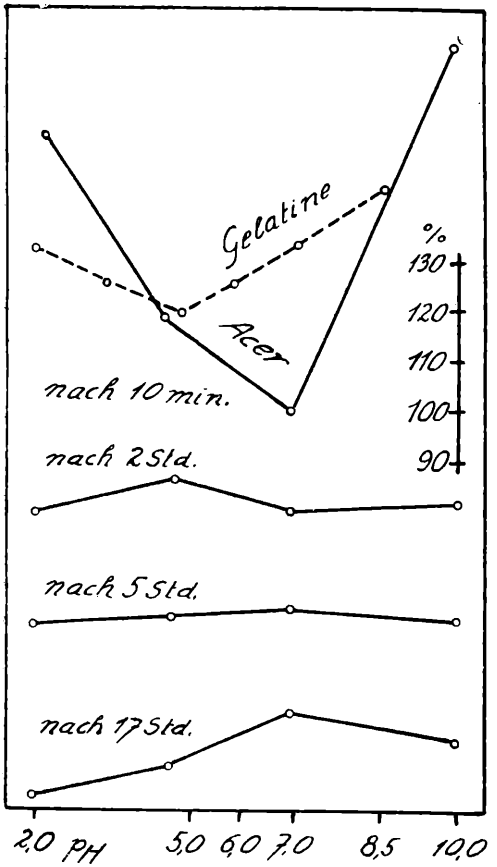

Abb. 7. p_H-Abhängigkeit der Kutikulartranspiration eines voll imbibierten *Acer*-Blattes bei allmählichem Wasserverlust sowie von Gelatine. (Tr.-Wert bei p_H 7 jeweils gleich 100 gesetzt.)

Den Schlüssel hiefür kann uns vielleicht die Beobachtung liefern, daß unmittelbar nach dem Abtrocknen der Blätter nach dem Aufenthalt in den Pufferlösungen (bei den „Wässerungsversuchen") oft ein abweichender Kurvenverlauf mit aus der Reihe fallenden Werten der KTr. auftrat, der erst in der 2. oder 3. Stunde in den regelmäßigen, auch mit der Aufsaugmethode erhaltenen Kurvenverlauf überging. Dies konnte einmal an *Acer* besonders schön

verfolgt werden (Abb. 7). Hiebei ergab sich in der ersten Stunde nach dem Wässerungsversuch eine ausgesprochene Minimumkurve mit dem Minimum um den Neutralpunkt; sie entspricht also unter Berücksichtigung der verschiedenen Lage des IEP völlig dem Modellversuch mit der Gelatine. Nach drei Stunden ist die Kurve flach geworden (unter gleichzeitiger allgemeiner Abnahme der Transpirationsintensität) und zeigt nach 5 Stunden bereits ein Maximum an Stelle des anfänglichen Minimums, das nach 17 Stunden noch deutlicher ausgeprägt ist. Die vollständig imbibierte Membran verhält sich demnach in ihrem transpiratorischen Verhalten wie ein homogenes Kolloid, der stärkere Quellungsgrad bedingt einen höheren Dampfdruck; sie entspricht in diesem Zustand auch den älteren Vorstellungen (Wiesner, Burgerstein), daß durch Wassereinlagerung in die Kutikula und die Membranen deren Diffusionswiderstände herabgesetzt werden.

Der erste Teil des Versuches von Abb. 7 könnte allerdings nun so gedeutet werden, daß die stärker transpirierenden Proben rascher austrocknen und daher infolge Entquellung ihre Tr. rascher senken als die weniger transpirierende um den IEP. Diese Erklärung versagt aber, wenn wir den weiteren Kurvenverlauf, also das weitere Absinken der IEP-fernen Proben bzw. die Umkehr des ursprünglichen Kurventyps in sein Negativ, ins Auge fassen. Hiefür müssen wohl spezifische kolloidale Membranänderungen als Ursache angenommen werden; wir glauben, diese in der Inhomogenität der Epidermisaußenwände, die bei fortschreitender Austrocknung und der damit verbundenen Rückverlegung des maximalen Dampfdrucks in die tieferen Membranpartien (Seybold) von steigender Bedeutung sein könnte, suchen zu dürfen. Die Zellwand besteht aus verschieden quellbaren Stoffen, wie schon das Auftreten von differenten IEP lehrt: stark quellbare Pektine (Anderson, Ruge), Schleime, Lipoide und plasmatische Elemente (Hansteen-Cranner) sind in das relativ starrere, weniger elastische Gerüst aus Zellulose mit den übrigen Einlagerungen (Lignin, Kutin usw., aber auch anorganischen Salzen, vgl. Frey-Wissling, Linsbauer) eingelagert, gleichsam eingespannt. Eine Entquellung bzw. Verringerung der Solvathüllen der stärker quellbaren Membrankolloide bei Annäherung an den IEP infolge Ladungsverminderung kann demnach mit einer relativen Vergrößerung zumindest der weiteren Porensysteme führen und damit zu einer erleichterten Wasserbeweglichkeit innerhalb der Membran im Sinne einer Massenströmung, so daß insgesamt eine relative Herabsetzung der Transpirationswiderstände und damit eine Erhöhung der

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Wasserabgabe resultiert. Umgekehrt würden demnach bei zunehmender Entfernung vom IEP die Wasserhüllen der Kolloide die Porensysteme allmählich verengen und verstopfen, wodurch von vorneherein die Wasserabgabe der Kutikula sich verringern müßte. Diese Vorstellung darf vorderhand nur als Arbeitshypothese aufgefaßt werden, es fehlen noch die nötigen experimentellen Unterlagen. Immerhin deckt sie sich jedoch weitgehend mit der Deutung der physiologischen Wirksamkeit der Membranen, die wir bereits 1940 unter ganz anderen Voraussetzungen und auf Grund anderer Methodik (Färbungs- bzw. Plasmolyseversuche) für die Hymenophyllaceen entwickelt haben, vor allem hinsichtlich der Wirkung von Metallionen (Härtel 1940, S. 144). Trifft dies tatsächlich zu, dann muß auch bei Versuchen mit den Ionen der Hofmeisterschen Reihe ein analoges — inverses — Verhalten wiederkehren. H. Härtel konnte bereits zeigen, daß pulverisiertes Pflanzenmaterial nach Imprägnation mit verdünnten NaCl-Lösungen eine starke Erhöhung der Quellbarkeit aufweist, während Behandlung mit äquimolaren KCl-Lösungen nur geringfügige Änderung der Quellbarkeit herbeiführt. Wir ließen nun Blätter, wie bei den Pufferversuchen beschrieben, n/50 und n/100 NaCl-, KCl- sowie $CaCl_2$-Lösungen aufsaugen und kontrollierten gleichzeitig die KTr.

Tabelle 8. Vergleich der Kutikulartranspiration nach Zufuhr von K-, Na- und Ca-Ionen.

(Kutikulartranspiration der Wasserkontrolle = 100.)

Pflanze	Kutikulartranspiration			Quellbarkeit[8]	
	K	Na	Ca	K	Na
Ampelopsis	183	64	77	—	—
Tilia	100	44	95	25,0	45,9
Liquidambar	108	81	228	—	—
Acer	107	86	98	25,5	60,0
Carpinus Betulus	135	106	193	24,3	61,8
Corylus avellana	119	47	70	—	—
Cornus sanguinea	120	84	—	—	—
Fagus silvatica	86	74	126	—	—

Unter der Einwirkung des stark quellungsfördernden Na-Ions tritt also durchwegs eine niedrigere KTr. als nach Darbietung des

[8] Quellbarkeitswerte nach H. Härtel.

weniger quellenden K- bzw. des entquellenden Ca-Ions[9]. Damit decken sich diese Befunde mit den Ergebnissen Kissers, nach denen bei Aufzucht in entsprechenden Salzlösungen die gleichen Reihen (Na stärkste Hemmung der Transpiration, Ca Förderung derselben) auftraten. Wie jedoch unsere Versuche zeigen, können diese Änderungen keineswegs ausschließlich auf anatomische bzw. morphogenetische Salzwirkungen beruhen; bei der kurzen Versuchszeit (die Unterschiede konnten zum Teil schon nach 9 Stunden beobachtet werden) kommt wohl nur eine direkte Salzwirkung, und zwar, wie ein Vergleich mit den Quellungsversuchen lehrt, auf die Membranen in Frage. Es tritt auch hinsichtlich der Metallionenwirkung die gleiche gegensätzliche Reaktion auf Quellung und KTr. auf, wie wir sie bei der Wirkung der H-Ionen gesehen haben; die KTr. ist also ein der Quellung inverser Vorgang. Vorbehaltlich eingehenderer kritischer Untersuchungen in dieser Richtung sprechen auch die letzterwähnten Versuche zugunsten der oben gegebenen Deutungsmöglichkeit.

Bei unserer zumeist geübten Art der Ionenapplikation durch Aufsaugenlassen mit dem Transpirationsstrom wird der kolloidale Zustand der gesamten Gerüstsubstanz geändert, wie die Qu.-Kurven gezeigt haben. Ob dadurch die Wasserbewegung innerhalb des Blattes, der extrafaszikuläre Transpirationsstrom (Strugger) beeinflußt und reguliert werden kann, ist noch nicht unter Beweis gestellt; die auf S. 64 besprochene Einschränkung auch der „inneren" Wasserabgabe bei *Phaseolus* läßt dies jedoch möglich erscheinen. Für die Änderungen der KTr. werden jedoch in erster Linie lediglich Zustandsänderungen der Epidermisaußenwände maßgebend sein, wie auch die Vergleiche mit der Wässerungsmethode — bei der infolge des geringen prozentualen Anteils der betroffenen Membranpartien gegenüber der Gesamtsubstanz die Qu.-Werte fast unverändert bleiben — lehrten. Die Größe des Effektes wird weniger von der Dicke als vielmehr vom submikroskopischen Bau, von der Dimensionierung des Porensystems abhängen. In Übereinstimmung damit haben auch neuere Untersuchungen keine direkten Zusammenhänge zwischen der Höhe der Kutikulartranspiration und der Dicke der Kutikula ergeben (Kamp); irreversible Änderungen der KTr. z. B. nach mehrmaligem stärkeren Wasserverlust (vgl. die „Abhärtungsversuche" Gäumanns und Jaags) als Alterungs- und damit Quellungserscheinungen der Membrankolloide (Hysteresis) fügen sich schön in den Rahmen der obigen Erklärungsmöglichkeiten.

[9] Vgl. hiezu Tabelle 6: Nach Wässerung im neutralen Puffer (Na-Salz!) erfolgt eine ausgiebigere Änderung der KTr. als in Leitungswasser!

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Auch eine scheinbare Divergenz zwischen den hier vorgetragenen Ergebnissen und unseren früheren Untersuchungen findet nun auf diese Weise ihre Erklärung. Wir hatten beobachtet (Härtel 1943), daß sich die KTr. in den verschiedenen Höhenstufen parallel mit der Qu. ändert, während nunmehr eine durchgehende Reziprozität zwischen den beiden Größen auffällt. Der Grund hiefür kann zweifach sein: wir haben seinerzeit die KTr. lediglich nach der Anwelk- und Austrocknungsmethode ermittelt, welche unter Umständen wie gezeigt, fehlerhafte Werte liefern kann; doch dürfte diese Fehlermöglichkeit namentlich beim Vergleich derselben Pflanzen von verschiedenen Standorten weniger ins Gewicht fallen. Wahrscheinlicher ist, daß die KTr. nicht allein vom p_H kontrolliert wird, sondern auch noch durch andere Faktoren, die unter den natürlichen Standortsbedingungen die Wirkung des p_H überdecken können. Die Abb. 4 stellt hiefür einen Beleg dar. Wohl verlaufen KTr.- und Qu.-Kurven von *Rhododendron* untereinander reziprok, doch liegen sowohl KTr.- wie auch Qu.-Kurven des extremeren Standortes in Übereinstimmung mit unseren früheren Untersuchungen unter denen des weniger exponierten, sind also in gleicher Richtung verschoben! Die durch p_H oder Ionenwirkungen hervorgerufenen Schwankungen sind offenbar anderer Natur als jene irreversiblen Änderungen, die durch die Standortsbedingungen, in erster Linie wohl Licht und Temperatur, induziert sind und die die KTr. wahrscheinlich durch verschiedene Dimensionierung des submikroskopischen Porensystems bestimmen. Hierüber sind weitere Untersuchungen bereits im Gange.

Zusammenfassung.

1. Die Kutikulartranspiration einer Reihe von Pflanzen (Holzgewächse und Krautige) zeigt nach Behandlung der Blätter mit Pufferlösungen deutliche Maximalwerte bei neutraler bis schwach saurer Reaktion; gegen das saure und meist auch gegen das alkalische Gebiet nimmt die KTr. ab.

2. Die Änderungen der KTr. können im wesentlichen auf Quellungsänderungen der Membranen zurückgeführt werden. Sie treten auch bei kurzfristiger Einwirkung der Puffer auf die Blattoberfläche auf und bleiben nach dem Abtöten der Blätter erhalten.

3. Die Pflanze hat offenbar die Möglichkeit, durch p_H-Änderungen in den Zellen (CO_2-Tension, kutikuläre Exkretion) ihre KTr. aktiv zu regulieren. Es können Beziehungen zur Ökologie der betreffenden Pflanzen angenommen werden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

4. Auf Grund von Modellversuchen wird eine Deutung der aufgefundenen Verhältnisse im Sinne eines durch Quellungsvorgänge innerhalb der Membran regulierten Porensystems und einer dadurch bedingten verschiedenen Wasserbeweglichkeit bei verschiedenem Quellungsgrad versucht.

Graz, im November 1946.

Schriftenverzeichnis.

Arens, K., 1934. Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. 80, 248.
Anderson, D. B., 1928. Struktur und Chemismus der Epidermisaußenwand von Clivia nobilis. Jb. wiss. Bot. 69, 501.
Brauner, L., 1932. Pflanzenphysiologisches Praktikum. Fischer, Jena.
Bünning, E., 1935. Zur Kenntnis der endonomen Tagesrhythmik bei Insekten und Pflanzen. Ber. d. D. Bot. Ges. 53, 594.
Burgerstein, A. Die Transpiration der Pflanzen. 1904, 1920, 1925. Fischer, Jena.
Calábek, J., 1927. The swelling of biocolloids. I. Ultraviolett rays and swelling of agar-agar. Protoplasma 3, 17.
Frey-Wyssling, A., 1938. Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Protopl.-Monogr. 15. Bd. Gebr. Borntraeger, Berlin.
Freudenberger, H., 1941. Die Reaktion der Schließzellen auf Kohlensäure und Sauerstoffentzug. Protoplasma 35, 15.
Gäumann, E. und Jaag, O., 1936. Untersuchungen über die pflanzliche Transpiration. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 45, 411.
Gustafson, F. G., zit. n. Small.
Haberlandt, G., 1924. Physiologische Pflanzenanatomie. Engelmann, Leipzig. 6. Aufl.
Hansteen-Cranner, B. 1919. Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten. Ber. d. D. Bot. Ges. 37, 380.
Härtel, H., 1945. Untersuchungen über die Quellbarkeit pflanzlicher Membranen. Diss. Wien (unveröff.).
Härtel, O., Physiologische Studien an Hymenophyllaceen. I. Zellphysiologische Untersuchungen. Protoplasma 34, 117. 1940. II. Wasserhaushalt und Resistenz. Ebenda 34, 489.
— 1943. Quellungsstudien an Pflanzen verschiedener Höhenstufen. Ebenda 37, 350.
Hertel, W., 1938. Beiträge zur Kenntnis maßhafter Beziehungen im Wasserhaushalt der Pflanzen. Flora 33, 143.
Höber, R., 1926. Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. Engelmann, Leipzig. 6. Aufl.
Hurd, A. M., zit. n. Small.
Kamp, H., 1930. Untersuchungen über Kutikularbau und kutikuläre Transpiration von Blättern. Jb. wiss. Bot. 72, 403.
Kerl, H. W., 1929. Beitrag zur Kenntnis der Spaltöffnungsbewegung. Planta 9, 407.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Kisser, J., 1927. Untersuchungen über den Einfluß der Nährsalze auf die Wasserabgabe, Wasseraufnahme, relative Sproß- und Wurzelmasse und der Blattstruktur. I. Planta 3, 562.
Kohl, zit. n. Seybold.
Lausberg, Th., 1935. Quantitative Untersuchungen über die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. 81, 769.
Linsbauer, K., 1917. Beiträge zur Kenntnis der Spaltöffnungsbewegungen. Flora 9, 100.
— 1930. Die Epidermis. Handb. d. Pflanzenanatomie, 1. Abt., 2. T., Bd. 4. Borntraeger, Berlin.
Lynn, M. J., zit. n. Small.
Mevius, W., 1935. Über das Verhalten belichteter Laubblätter in kohlensäurefreier Luft. Jb. wiss. Bot. 81, 327.
Nicolič, M., 1925. Beiträge zur Physiologie der Spätöffnungsbewegungen. I. Der Einfluß von Säuren auf Transpiration und Spaltöffnungsbewegung. Beih. Bot. Cbl. Abt. I., 41, 309.
Osterhout, W. J. V. und Dorcas, M. J., 1926. The penetration of CO_2 into living protoplasm. J. gen. Physiol. 9, 255.
Pisek, A. und Berger, E., 1938. Kutikuläre Transpiration und Trockenresistenz isolierter Blätter und Sprosse. Planta 28, 124.
Pisek, A. und Cartellieri, E., 1933. Der Wasserhaushalt der alpinen Zwergsträucher. Jb. wiss. Bot. 79, 131.
Pyrkosch, G., 1936. Licht und Transpirationswiderstand. II. Der Einfluß des Lichtes auf kolloidale Systeme. Protoplasma 26, 520.
Rombeck, F., 1943. Untersuchungen über den Stoffwechsel der grünen Blätter im CO_2-freien Raum. Jb. wiss. Bot. 91, 187.
Ruge, U., 1937. Zur Charakteristik einer für die Physiologie der Zellstreckung wichtigen Substanz pflanzlicher Membranen. Biochem. Zbl. 295.
Seybold, A. Die pflanzliche Transpiration. I. Erg. Biol. 5, 29, 1929. II. Ebenda 6, 559. 1930.
Small, J., 1929. Hydrogen ion concentration in plant cells and tissues, Protopl.-Monogr. 2. Borntraeger, Berlin.
Strugger, S., 1938. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Speicherung und Wanderung des Fluoreszeinkaliums in pflanzlichen Geweben, Flora 132, 253.
— 1943. Die Analyse der extrafaszikulären Komponente des Saftstroms. Naturwiss. 31, 181.
Scarth, G. W., 1927. Stomatal movement, its regulation and regulatory role. Protoplasma 2, 498.